

Dünnschicht-Chromatographie in der Klinik

VI. Mitteilung: Trennung der Carbonsäuren C₃ bis C₆ an dünnen Celluloseschichten

Von J. DITTMANN

Technische Mitarbeit: G. Liem

Aus der Universitäts-Kinderklinik Homburg-Saar und der Landeskinderklinik Neunkirchen-Saar-Koblhof
(Direktor: Prof. Dr. J. B. Mayer)

(Eingegangen am 17. Dezember 1965)

Durch Chromatographie an dünnen Cellulose-Schichten mit sek. Butanol/2N wäbr. NH₃ (80 + 20; v/v) lassen sich Carbonsäuren von C₃—C₆ trennen. Ameisensäure und Essigsäure lassen sich nicht voneinander trennen; geradkettige Carbonsäuren lassen sich nicht von verzweigten Isomeren trennen.

Carboxylic acids of chain lengths C₃—C₆ are separated by chromatography on thin layers of cellulose in the solvent sec.butanol/2N aqueous NH₃ (80 + 20; v/v). Formic and acetic acids are not resolved. Straight chain carboxylic acids are not separated from the branched isomers.

Für die Trennung nichtflüchtiger Carbonsäuren an Cellulose-Dünnschichten existieren mindestens drei gut brauchbare Methoden (1, 2, 3). Bei dem Versuch, für die Papierchromatographie angegebene Methoden zur Trennung flüchtiger Carbonsäuren auf die Dünnschichtchromatographie (DC) zu übertragen, erzielt man jedoch schlechte Ergebnisse (es wurden Äthanol, n-Propanol, n-Butanol mit wäbr. NH₃-Lösung in verschiedenen Mischungsverhältnissen verwendet). Nach verschiedenen Versuchen wurde ein brauchbares System gefunden: sek. Butanol/2N wäbr. NH₃-Lösung (80 + 20; v/v).

Schichten sehr leicht auftritt und die ursprünglichen blauen Farbflecke der Ammonium-Salze der getrennten Fettsäuren nur noch schwach sichtbar sind.

Ergebnisse

In Tabelle 1 sind die aufgetragenen Mengen und die gefundenen R_F-Werte angegeben. Es handelt sich jeweils um Mittelwerte aus 4 Chromatogrammen mit reinen Lösungen der Substanzen. Die mittlere Streuung um die Mittelwerte ist ebenfalls eingetragen. Die nachweisbaren Mengen der einzelnen Säuren sind etwa halb so hoch wie die verwendeten Mengen.

Methodik

Material

Ameisensäure 98—100% p. A., Essigsäure 96% p. A. und Propionsäure (Fa. E. Merck, Darmstadt); Buttersäure puriss., Isobuttersäure puriss., Valeriansäure puriss., Isovaleriansäure puriss., Capronsäure puriss. und Isocapronsäure purum (Fa. Fluka, Buchs/Schweiz); Cellulose-Pulver MN 300 HR (Fa. Macherey & Nagel, Düren); DC-Streichgerät für konstante Schichtdicke (Fa. Desaga, Heidelberg).

Arbeitsvorschrift

Dünne Cellulose-Schichten wurden nach der in der 1. Mitteilung dieser Reihe beschriebenen Methode hergestellt (4). Lösungen der verwendeten Säuren in 2N wäbr. NH₃ wurden 17 mm vom unteren und 20 mm vom linken Rand entfernt als möglichst kleiner Fleck auf Dünnschicht-Platten aufgetragen. Entwickelt wurde 1 mal 10 cm mit sek. Butanol/2N NH₃ (80 + 20; v/v). Dauer der Entwicklung etwa 2 Std., Temperatur 26—27°. Anfärbt wurden die Platten mit einer Lösung von 50 mg Bromphenolblau und 200 mg Citronensäure in 100 ml Wasser (5). Zwischen Auftragen der Lösungen und Entwickeln der Platten darf wegen Flüchtigkeit der Substanzen nicht zu lange gewartet werden. Zwischen Entwickeln und Anfärben sollten die Platten 20—30 Min. in einem Raum mit sauberer Luft waagrecht liegen. Nach Besprühen mit Indikator-Lösung sollte man die Platten beobachten, die Flecke markieren und bald auswerten, da bei Lagerung der Platten Blaufärbung der

Tab. 1
R_F-Werte und getrennte Mengen von Carbonsäuren
(Ausführung s. Arbeitsvorschrift)

Substanz	Menge (µg)	R _F -Wert
Ameisensäure	1,3	0,21 ± 0,00
Essigsäure	1,0	0,21 ± 0,01
Propionsäure	2,0	0,31 ± 0,01
Buttersäure	2,0	0,44 ± 0,01
Isobuttersäure	0,9	0,43 ± 0,02
Valeriansäure	1,4	0,63 ± 0,01
Isovaleriansäure	1,4	0,60 ± 0,02
Capronsäure	1,4	0,80 ± 0,02
Isocapronsäure	1,4	0,79 ± 0,02

Butter- und Isobutter-, Valerian- und Isovalerian- sowie Capron- und Isocapronsäure lassen sich mit der angegebenen Methode *nicht* trennen. Nach Auftragen eines Gemisches aller in Tabelle 1 erwähnten Substanzen in den angegebenen Mengen und Entwickeln erhält man 5 Flecke mit R_F-Werten von 0,22, 0,32, 0,45, 0,63 und 0,82. Bei Verdoppelung der aufgetragenen Mengen ändern sich die R_F-Werte nicht.

Literatur

1. SCHWEIGER, A., Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 124, 20 (1963). — 2. LEHMANN, G., persönliche Mitteilung — 3. BANCHER, E. und H. SCHERZ, Mikrochim. Acta (Wien), 1159 (1964). — 4.

DITTMANN, J., diese Z. 1, 190 (1963). — 5. LINSKENS, H. F., Papierchromatographie in der Botanik, S. 88, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1955).

Dr. rer. nat. Jürgen Dittmann
665 Homburg-Saar
Universitäts-Kinderklinik